

货号: ZC-A0254

规格: 500T

MTT细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

简介:

MTT细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(MTT Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Kit)是一种非常经典的细胞增殖和细胞毒性检测试剂盒,被广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的检测。 □

MTT可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成结晶状的深紫色产物formazan。在特定溶剂存在的情况下,可以被完全溶解。然后通过酶标仪可以测定570nm波长附近的吸光度。细胞增殖越多越快,则吸光度越高;细胞毒性越大,则吸光度越低。

试剂组成:

名称	500T	Storage
试剂(A):MTT 溶液 solution (5mg/ml)	5ml	-20°C 避光
试剂(B): Formazan solvent	60ml	RT

自备材料:

1. 细胞培养液。
2. 胰蛋白酶消化液。
3. 低速离心机。
4. 96孔培养板。
5. 细胞计数板或计数器。
6. 细胞培养箱。
7. 摇床。
8. 显微镜。
9. 酶联免疫检测仪。

保存条件:

4°C 或-20°C 保存, MTT 需避光保存, 一年有效; MTT 配制成溶液后需-20°C 避光保存; Formazan 溶解液也可以室温保存。

操作步骤(仅供参考):

1. 细胞用含有血清的培养液培养至对数生长期,常规胰蛋白酶消化液消化细胞(悬浮细胞无需消化)。
2. 低速离心,收集细胞沉淀。
3. 用培养液重悬细胞沉淀,制备成单细胞悬液,并计数。
4. 细胞接种 96 孔培养板,一般接种密度为 3000-10000 个细胞/孔,通常细胞增殖实验每孔加 3000 个细胞,细胞毒性试验每孔加 6000 个细胞,具体每孔所用细胞数目,需根据细胞的大小,细胞增殖速度的快慢等决定。
5. 37°C 5%CO₂ 继续培养或按照实验具体需要进行培养,一般培养需要 6-24h。
6. 按照实验具体要求,给与 0-20ul 干预药物处理,37°C 5%CO₂ 继续培养或至合适时间。
7. 弃培养液,每孔加入 10ul MTT solution 和 100ul 新鲜培养液,在细胞培养箱内继续孵育 4h。

8. 弃培养液,每孔加入 110ul Formazan solvent,至摇床低速震荡 10min,使结晶物充分溶解.如果紫色结晶物较小或较少,溶解时间会缩短一些,如果紫色结晶物较大或较多,溶解时间会缩长一些。
9. 在酶联免疫检测仪 570nm 测各孔吸光度。

注意事项：

1. 由于使用 96 孔板进行检测，如果细胞培养时间较长，一定要注意蒸发的问题。一方面，由于 96 孔板周围一圈最容易蒸发，可以采取弃用周围一圈的办法，改加 PBS，水或培养液；另一方面，可以把 96 孔板置于靠近培养箱内水源的地方，以缓解蒸发。
2. MTT 溶剂在低温情况下会凝固，使用前请室温放置或 20-25°C 水浴温育片刻至全部融解后使用。MTT 配制成溶液后为黄色，需避光保存，长时间光照会导致失效。当颜色变为灰绿色时，请勿使用。
3. Formazan 溶解液结冻或产生沉淀时可以室温或 37°C 水浴孵育以促进溶解，并且必须在全部溶解并混匀后使用。
4. 加入 Formazan 溶解液后请适当轻轻混匀，但须注意避免产生泡沫。 □
5. 应注意设立 OD 调零孔和对照孔。
6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。 □
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期： 12 个月有效。